

Е. А. Шульга, Ю. Н. Грозеску, А. А. Бахарева

ЛЕЧЕБНЫЕ СВОЙСТВА ПРОБИОТИКА «СУБТИЛИС» ПРИ РЕПАРАЦИИ КОЖНЫХ ПОКРОВОВ ОСЕТРОВЫХ РЫБ

Введение

В последние годы в экосистемах водоемов произошли существенные изменения, оказавшие влияние на численность и физиологическое состояние осетровых рыб. В связи с этим значительно сузились возможности отбора качественных рыб для целей искусственного воспроизводства, и именно поэтому вопрос о максимально эффективном использовании и сохранении имеющихся производителей приобретает особую остроту.

Снижение численности популяции осетровых вынуждает рыбоводные предприятия вовлекать в рыбоводный процесс производителей без соответствующей отбраковки [1]. Кроме того, заготовка и транспортировка рыб на рыбоводные заводы оказывает серьезное стрессовое воздействие, вызывая повышение уровня глюкокортикоидных гормонов, глюкозы, приводя к изменению гематологических показателей, водно-солевому дисбалансу, снижению иммунитета [2–4]. Неизбежна также и травматизация во время заготовки на тonyaх и перевозки производителей. Поскольку при выращивании рыб обеспечение их организма полноценным белковым кормом и витаминами имеет особое значение при восстановлении поврежденной ткани [5–7], целью исследований являлось определение лечебных свойств пробиотического препарата «Субтилис» при репарации поврежденных кожных покровов у осетровых рыб.

Материал и методы исследований

Исследования выполняли в условиях ФГУ «Осетровый рыбоводный завод «Лебяжий» и Волгоградского осетрового рыбоводного завода. В качестве объектов исследований использовали молодь русского осетра (*Acipenser guldentstädtii*, Brandt et Ratzeburg, 1833) средней начальной массой 14,8 г, а также стерлядь (*Acipenser ruthenus*, Linnaeus, 1758) средней массой 1 400 г, выловленную из естественной популяции с целью доместикации.

Лечебные свойства препарата «Субтилис» определяли в два этапа: на первом этапе молоди русского осетра наносили небольшие, но глубокие дорсальные надрезы кожных покровов; на втором этапе для исследований были отобраны особи стерляди с одинаковой степенью «потертостей» (повреждений, полученных в результате транспортировки), характеризующиеся слабой подвижностью, наличием множественных поражений кожных покровов, роострума, плавников, воспалительным поражением ануса.

В опытном варианте кормление осуществляли комбикормом, содержащим сухую форму пробиотического препарата «Субтилис», в состав которого входит биомасса спорообразующих бактерий *Bacillus subtilis* ВКМ В-2250 и *Bacillus licheniformis* ВКМ В-2252, выделенные почвы. В контрольном варианте использовали производственные комбикорма, традиционно применяемые на предприятии (ОТ-7 для русского осетра, ВОРЗ-Ст для стерляди).

Визуально оценивали поведение рыб, интенсивность поражения сапролегнией, процесс и время заживления ран. Проводили отбор проб с раневой поверхности рыб, поверхности тела рыб, воды из бассейнов.

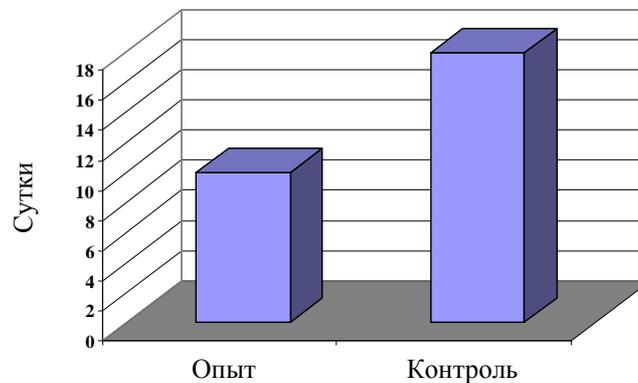
Взвешивание и измерение рыб проводили согласно рекомендациям И. Ф. Правдина [8]. Для изучения количества мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (МАФАНМ) применяли метод серийных разведений [9].

Результаты исследований и их обсуждение

В течение нескольких первых суток после нанесения надрезов у 100 % особей как опытной, так и контрольной групп отмечали стрессовую реакцию, которая сопровождалась следующими признаками: потеря рыбами активности, аппетита, осветление кожных покровов.

Через трое суток рыба начала вновь потреблять комбикорм. Результаты оценки лечебных свойств показали, что полное заживление ран по первичному натяжению (при отсутствии некротизированных тканевых элементов) у рыб в опытном варианте произошло на 5 суток

раньше, чем в контроле (рис.). При этом у рыб, потреблявших комбикорм с пробиотиком, процессы клеточного и молекулярного взаимодействия не были нарушены. В результате первая и вторая фаза, характеризующиеся сворачиваемостью крови и воспалением, протекали достаточно быстро – в течение одних суток. Уже через 48 часов наблюдали начало пролиферативной фазы [10, 11], при которой отмечались первые признаки стягивания ран. В контрольном варианте начальные фазы репарации проходили медленнее, а стягивание повреждений началось лишь через 6 суток.



Влияние препарата «Субтилис» на скорость полной репарации ран при незначительном повреждении

В контрольном варианте в воде и тел рыб доминировали нежелательные с точки зрения гигиены микроорганизмы, которые отсутствовали на поверхности тела рыб опытного варианта.

Раны служат входными воротами для микроорганизмов – возбудителей инфекционных осложнений. Рана загрязняется микробами уже в момент ранения – первичное загрязнение раны [12]. Так, у 20 % интактных рыб наблюдали инфицирование ран. По-видимому, у рыб контрольной группы загрязнение поврежденных покровов продолжалось, что привело к вторичному микробному загрязнению раны и увеличению ее общей микробной обсемененности. Качественный состав выделенной микрофлоры с раневой поверхности рыб в контрольном варианте отличался большим разнообразием (табл. 1).

Таблица 1

Влияние пробиотика «Субтилис» на количественный и качественный состав микрофлоры, выделенной с поверхности рыб и из воды

Исследуемый объект	МАФАНМ, КОЕ/г	Выделенные микроорганизмы	
Вода из бассейна:	опыт	$2,1 \cdot 10^3$	<i>Aeromonas sp.</i> , <i>Plesiomonas sp.</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Bacillus</i>
	контроль	$1,8 \cdot 10^5$	<i>Aeromonas sp.</i> , <i>Plesiomonas sp.</i> , <i>Acinetobacter</i> , энтеробактерии, <i>Bacillus</i>
Поверхность тела рыб:	опыт	$1,6 \cdot 10^3$	<i>Plesiomonas sp.</i> , <i>Bacillus</i>
	контроль	$1,2 \cdot 10^5$	<i>Aeromonas sp.</i> , <i>Plesiomonas sp.</i> , <i>Acinetobacter</i> , энтеробактерии, <i>Bacillus</i>
Раневая поверхность:	опыт	$1,7 \cdot 10^3$	<i>Plesiomonas sp.</i> , <i>Bacillus</i>
	контроль	$2,2 \cdot 10^6$	<i>Aeromonas sp.</i> , <i>Plesiomonas sp.</i> , <i>Acinetobacter</i> , энтеробактерии, <i>Bacillus</i> , <i>Flavobacterium sp.</i>

Исследование количества МАФАНМ показало, что в воде из бассейнов опытного варианта оно было ниже и составило $2,1 \cdot 10^3$, тогда как в контроле – $1,8 \cdot 10^5$. На раневой поверхности рыб контрольного варианта обнаружили значительное количество различных микроорганизмов.

Формирование раневой инфекции является следствием нарушения общей защитной реакции организма [13, 14]. В связи с тем, что пробиотик обладает иммуномодулирующим действием, благодаря активации макрофагов, индукции эндогенного интерферона и синтеза иммуноглобулинов, резистентность рыб опытного варианта к инфицированию была значительно выше.

Анализ рыбоводно-биологических показателей, полученных в ходе эксперимента, позволяет утверждать, что введение в корма для осетровых рыб пробиотического препарата «Субтилис» позитивно влияет на рост и выживаемость рыб с механическими повреждениями кожных покровов. Среднесуточная скорость роста рыб контрольного варианта была на 2,3 % ниже, чем у рыб опытного варианта, абсолютный прирост – на 20 %, выживаемость – на 10 % (табл. 2).

Таблица 2

**Рыбоводно-биологические показатели
выращивания молоди русского осетра
с поврежденными кожными покровами**

Показатель	Опыт	Контроль
Масса начальная, г	14,77 ± 0,44	14,85 ± 0,29
Масса конечная, г	31,57 ± 0,62*	23,65 ± 0,52
Абсолютный прирост, г	16,80	11,27
Среднесуточная скорость роста, %	15,1	12,8
Коэффициент массонакопления, ед.	0,04	0,02
Выживаемость, %	100	90
Период выращивания, сут	20	20

* Различия достоверны при $p \leq 0,001$.

Формирование ремонтно-маточного стада стерляди на Волгоградском осетровом рыбоводном заводе проводят из числа ремонтной группы рыб, выращенных от икры в искусственных условиях, а также при domestикации рыб, отловленных из естественной среды обитания. У 40 % доставленных на предприятие особей «дикой» стерляди при ихтиологическом осмотре отмечали следующие симптомы начала воспалительного процесса: покраснение кожных покровов, потертости, очаговый некроз покровных и подлежащих тканей. Все повреждения были связаны с транспортировкой рыбы. В связи с этим важно было оценить эффективность действия пробиотического препарата «Субтилис» на репарацию кожных покровов. Для экспериментальных исследований были отобраны особи с одинаковой степенью поражения кожных покровов. Все особи имели следующие внешние признаки: слабую подвижность, множественные поражения кожи, рострума, плавников, воспалительное поражение ануса.

Использование в течение 14 суток комбикорма, содержащего пробиотический препарат «Субтилис», способствовало лучшему заживлению пораженных кожных покровов. В контрольном варианте раны стали покрываться сапролегнией, состояние рыб ухудшилось. Через 2 недели эксперимента отход среди интактных рыб составил 8 %, тогда как в опытном варианте – 2 %.

Наблюдения показали, что в варианте, где рыба потребляла комбикорм с пробиотическим препаратом, отмечалось исчезновение покраснений кожных покровов уже на 4-е сутки эксперимента. Полное заживление поврежденных покровов наблюдалось на 10-е сутки. Как правило, реконструкция раны зависит от равновесия между образованием коллагена и его деградацией. Поврежденные коллагеновые волокна разрушались тканевыми коллагеназами, новые волокна синтезировались и более плотно переплетались, формируя небольшой рубец. По-видимому, это связано с тем, что, попадая в пищеварительный тракт, бактерии *Bacillus subtilis* и *Bacillus licheniformis* начинают активно продуцировать аминокислоты, которые, вступая в процесс синтеза коллагена, способствуют быстрому заживлению ран [15, 16].

Заключение

Таким образом, в результате исследований было установлено, что препарат «Субтилис» активизирует синтез коллагена, способствует заживлению раневых повреждений тканей. Использование комбикормов с пробиотиком благоприятно влияет на ряд фаз процесса заживления раны, улучшает иммунный ответ и опсонизацию бактерий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Распределение, качественная структура и численность осетровых рыб в Каспийском море и предварительный прогноз их прилова при промысле частиковых рыб на 2006 г.* / А. А. Романов, А. В. Левин, А. Л. Журавлева и др. // Рыбохозяйственные исследования на Каспии: Результаты НИР за 2004 г. – Астрахань: КаспНИРХ, 2005. – 616 с.

2. Гершанович А. Д., Пегасов В. А., Шатуновский М. И. Экология и физиология молоди осетровых. – М.: Агропромиздат, 1987. – С. 87–105.
3. Полунина И. И. Общая физиология регуляции функций. – Астрахань: АГМА, 2000. – 112 с.
4. Патологическая физиология и физиология в вопросах и ответах / Л. З. Тель, С. П. Лысенков, Н. Г. Шарипова, С. А. Шастун. – М.: МИА, 2007. – 500 с.
5. Кормейн Р. Х., Асгар С. С. Иммунология и болезни кожи. – М.: Медицина, 1983. – 255 с.
6. Абросимова Н. А., Васильева Л. М. Основные пути развития товарного осетроводства // Проблемы современного товарного осетроводства: тез. докл. науч.-практ. конф., Астрахань, 24–25 марта 1999 г. – Астрахань, 1999. – С. 3–5.
7. Грозеску Ю. Н., Пономарева Е. Н., Судакова Н. В. Влияние аскорбиновой кислоты и куксовита на заживление поврежденных кожных покровов осетровых рыб // Осетровые на рубеже 21 века: тез. докл. Междунар. конф., Астрахань, 11–15 сент. 2000 г. – Астрахань: КаспНИРХ, 2000. – С. 300–301.
8. Правдин П. Ф. Руководство по изучению рыб. – М.: Пищ. пром-сть, 1966. – 250 с.
9. Справочник по микробиологическим методам исследований / под ред М. О. Биргера. – М.: Медицина, 1982. – 462 с.
10. Гецадзе Х. А. Пролиферативная способность фибробластов кожи долгожителей *in vitro* // Сообщ. АН ГССР. – 1984. – Т. 115, № 2. – С. 413–416.
11. Малюков А. Г., Ковалев И. Е. Кожа и происхождение человека // Природа. – 2001. – № 6. – С. 76–83.
12. Домушин И. И. О значении иммунных механизмов в регуляции репаративных процессов // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 1978. – Вып. 6. – С. 30–32.
13. Гаибов А. Г., Султанов Р. М. Морфология кожной раны в ее ранних сроках // Здравоохранение Таджикистана. – 1988. – № 3. – С. 98–100.
14. Чернуха А. М., Флорова Е. П. Кожа: строение, функции, общая патология и терапия. – М.: Медицина, 2006. – 336 с.
15. Малик Н. И., Панин А. Н., Вершинина И. Ю. Пробиотики: теоретические и практические аспекты // Био. – 2002. – № 3 (18). – С. 25–28.
16. Кулаков Г. В. Субтилис – натуральный концентрированный пробиотик. – М.: ООО Типография «Визави», 2003. – 48 с.

Статья поступила в редакцию 22.04.2009

**THE MEDICINAL PROPERTIES
OF PROBIOTIC "SUBTILIS"
AT THE REPARATION OF STURGEON COVERLET**

E. A. Shulga, Yu. N. Grozesku, A. A. Bakhareva

The objects of the study in working conditions are Russian sturgeon and sterlet. It is stated that the use of the combined feed, containing probiotic "Subtilis" in the process of adaptation of starlet, got out in natural conditions, assists in better regenerative process of cutaneous covering; complete wound repair of Russian sturgeon fry happened 5 days earlier than in a control group. Furthermore, in water of the controlling tanks the unwanted (in sanitary aspect) microorganisms were observed, but in testing group they were absent.

Key words: Russian sturgeon, sterlet, reparation, damages, probiotic, feeding, infection.